

GEÄNDERTE FASSUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
15. September 2005 (15.09.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2005/085440 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **C12N 15/10**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2005/002198

(22) Internationales Anmeldedatum:  
2. März 2005 (02.03.2005)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
10 2004 010 928.1 5. März 2004 (05.03.2004) DE  
10 2005 001 889.0 14. Januar 2005 (14.01.2005) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): **SIRS-LAB GMBH** [DE/DE]; Winzerlaer Strasse 2a,  
07745 Jena (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **SCHMIDT, Karl-Hermann** [DE/DE]; Waldstrasse 15, 07646 Stadtroda (DE).  
**STRAUBE, Eberhard** [DE/DE]; Hermann-Löns-Strasse  
58, 07745 Jena (DE). **RUSSWURM, Stefan** [DE/DE];  
Von-Hase-Weg 32, 07743 Jena (DE). **DEIGNER,  
Hans-Peter** [DE/DE]; M.-Luther-Strasse 23, 68623 Lam-  
pertheim (DE). **SACHSE, Svea** [DE/DE]; Liselotte-Her-  
rmann-Strasse 16, 07747 Jena (DE). **LEHMANN, Marc**  
[DE/DE]; Von-Hase-Weg 8, 07743 Jena (DE).

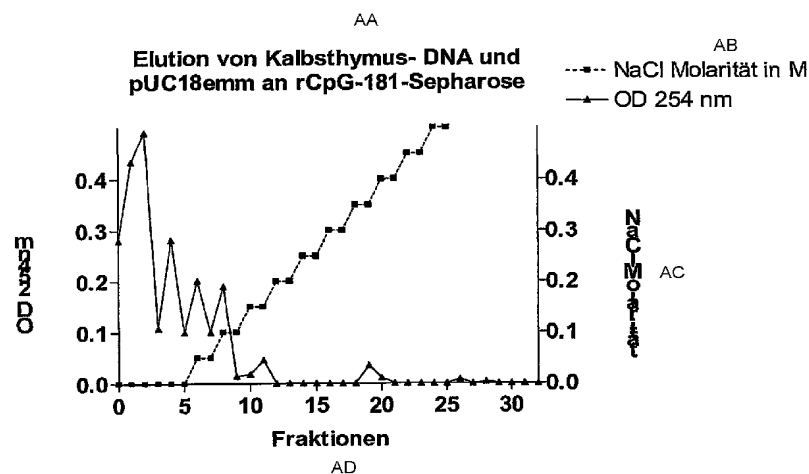
(74) Anwälte: **STÖRLE, Christian** usw.; Geyer, Fehners &  
Partner, Perhamerstrasse 31, 80687 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für  
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR ENRICHING AND/OR SEPARATING PROKARYOTIC DNA USING A PROTEIN THAT SPECIFICALLY BONDS TO UNMETHYLATED DNA CONTAINING CPG-MOTIVES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR ANREICHERUNG UND/ODER ABTRENNUNG VON PROKARYONTEN DNA MITTELS EINES PROTEINS, DAS NICHT-METHYLIERTE CpG-MOTIVE ENTHALTENDE DNA SPEZIFISCH BINDET



AA ELUTION OF CALF THYMUS DNA AND PUC18EMM ON RCPG-181-SEPHAROSE  
AB NA CL MOLAR CONCENTRATION IN M  
AC NA CL MOLAR CONCENTRATION  
AD FRACTIONS

(57) Abstract: The invention relates to a method for separating and/or enriching prokaryotic DNA, comprising the following steps:  
a) contacting of at least one prokaryotic DNA that is in solution with a protein that bonds specifically to prokaryotic DNA, said protein being 25 %-35 % homologous with the wild-type CGPB protein, thus forming a protein-DNA complex; and b) separation of the complex. The invention also relates to a kit for carrying out said method.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 2005/085440 A1



AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

- (84) **Bestimmungsstaaten** (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— mit internationalem Recherchenbericht

- (88) **Veröffentlichungsdatum des geänderten internationalen Recherchenberichts:**

15. Dezember 2005

- (15) **Informationen zur Berichtigung:**

siehe PCT Gazette Nr. 50/2005 vom 15. Dezember 2005, Section II

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

(57) **Zusammenfassung:** Es wird ein Verfahren zur Abtrennung und/oder Anreicherung prokaryotischer DNA beschrieben enthaltend die Schritte a. Kontaktieren mindestens einer in Lösung befindlichen prokaryotischen DNA mit einem spezifisch prokaryotische DNA bindenden Protein, dass eine 25%-ige bis 35%-ige Homologie zum Wildtyp-CGPB-Protein aufweist, wodurch ein Protein-DNA-Komplex gebildet wird, und b. Separation des Komplexes. Weiterhin wird ein Kit zur Durchführung des Verfahrens beschrieben.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No  
 PCT/EP2005/002198

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	SACHSE S ET AL: "Using a DNA-binding protein to enrich prokaryotic DNA from a mixture of both eukaryotic and prokaryotic DNA" 56. DGHM-JAHRESTAGUNG, 26.-29. SEPTEMBER 2004, MÜNSTER, DE, 'Online! 2004, XP002332325 Retrieved from the Internet: URL: <a href="http://www.sirs-lab.de/content/de/pdf/kompetenzen/sachse.pdf">http://www.sirs-lab.de/content/de/pdf/kompetenzen/sachse.pdf</a> 'retrieved on 2005-06-16! the whole document	1-25
P,X	EP 1 400 589 A (SIRS-LAB GMBH) 24 March 2004 (2004-03-24) claims; examples ----- -/--	1-25



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## ° Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

7 September 2005

Date of mailing of the international search report

28/09/2005

Name and mailing address of the ISA

 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sommer, B

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP2005/002198

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>CROSS S H ET AL: "Purification of CpG islands using a methylated DNA binding column"</p> <p>NATURE GENETICS, NEW YORK, NY, US, vol. 6, no. 3, 1 March 1994 (1994-03-01), pages 236-244, XP000578157</p> <p>ISSN: 1061-4036</p> <p>abstract</p>	1-25
Y	<p>-----</p> <p>VOO K S ET AL: "Cloning of a mammalian transcriptional activator that binds unmethylated CpG motifs and shares a CXXC domain with DNA methyltransferase, human trithorax, and methyl-CpG binding domain protein 1"</p> <p>MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, US, vol. 20, no. 6, March 2000 (2000-03), pages 2108-2121, XP002262527</p> <p>ISSN: 0270-7306</p> <p>Zusammenfassung; Material und Methoden; Ergebnisse; Diskussion; figure 4</p> <p>-----</p>	1-25

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2005/002198

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
EP 1400589	A	24-03-2004	AU	2003260392 A1	04-05-2004
			CA	2498951 A1	22-04-2004
			WO	2004033683 A1	22-04-2004
<hr/>					

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/002198

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, Sequence Search

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>a</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	SACHSE S ET AL: "Using a DNA-binding protein to enrich prokaryotic DNA from a mixture of both eukaryotic and prokaryotic DNA" 56. DGHM-JAHRESTAGUNG, 26.-29. SEPTEMBER 2004, MÜNSTER, DE, 'Online! 2004, XP002332325 Gefunden im Internet: URL: <a href="http://www.sirs-lab.de/content/de/pdf/kompetenzen/sachse.pdf">http://www.sirs-lab.de/content/de/pdf/kompetenzen/sachse.pdf</a> 'gefunden am 2005-06-16! das ganze Dokument	1-25
P, X	EP 1 400 589 A (SIRS-LAB GMBH) 24. März 2004 (2004-03-24) Ansprüche; Beispiele ----- -/--	1-25



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

<sup>a</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- \*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*G\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

7. September 2005

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

28/09/2005

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Sommer, B

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie <sup>o</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	<p>CROSS S H ET AL: "Purification of CpG islands using a methylated DNA binding column"</p> <p>NATURE GENETICS, NEW YORK, NY, US, Bd. 6, Nr. 3, 1. März 1994 (1994-03-01), Seiten 236-244, XP000578157 ISSN: 1061-4036 Zusammenfassung</p> <p>-----</p>	1-25
Y	<p>V00 K S ET AL: "Cloning of a mammalian transcriptional activator that binds unmethylated CpG motifs and shares a CXXC domain with DNA methyltransferase, human trithorax, and methyl-CpG binding domain protein 1"</p> <p>MOLECULAR AND CELLULAR BIOLOGY, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, US, Bd. 20, Nr. 6, März 2000 (2000-03), Seiten 2108-2121, XP002262527 ISSN: 0270-7306 Zusammenfassung; Material und Methoden; Ergebnisse; Diskussion;Abbildung 4</p> <p>-----</p>	1-25

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2005/002198

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 1400589 A	24-03-2004	AU 2003260392 A1 CA 2498951 A1 WO 2004033683 A1	04-05-2004 22-04-2004 22-04-2004